

ラットにおける亜鉛栄養状態の差が亜鉛の吸収と体内分布に及ぼす影響

安部 麻美子¹⁾, 松田 芳和¹⁾, 小邨 奈未¹⁾, 川島 朋絵¹⁾, 吉田 宗弘²⁾

(¹⁾日本クリニック(株)中央研究所*, (²⁾関西大学工学部食品工学研究室**)

Effect of dietary zinc level on absorption and tissue distribution of zinc in rats

Mamiko ABE¹⁾, Yoshikazu MATSUDA¹⁾, Nami KOMURA¹⁾, Tomoe KAWASHIMA¹⁾, Munehiro YOSHIDA²⁾

¹⁾Central Research Institute, Japan Clinic Co., Ltd.

²⁾Department of Biotechnology, Faculty of Engineering, Kansai University

Changes in the absorption rate and tissue distribution of zinc under different nutritional status of this element were examined. Five-week-old male Wistar rats were given a zinc-deficient basal diet (zinc content, 0.6 ppm) or the basal diet supplemented with graded levels (5.5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 30 ppm or 40 ppm) of zinc as zinc sulfate for 4 weeks. Feeding of zinc-deficient diet for 4 weeks induced poor growth and a significant decrease in zinc concentrations in many tissues. Rats fed a diet containing zinc at a level of 5.5 ppm showed lower growth and tissue zinc concentrations than those fed diet containing zinc at level of 10 ppm or more. In particular, the zinc concentration in tibia responded remarkably to the elevation of dietary zinc level. Apparent absorption of zinc was inversely correlated to the dietary zinc level; apparent absorption in rats fed diet containing 5.5 ppm zinc was 92%, while that in rats fed diet containing 30 ppm zinc was 27%. These results indicate that the minimum dietary requirement for zinc is 5.5 to 10 ppm in growing rats.

【目 的】

平成14年国民栄養調査によると、日本人の一日の亜鉛摂取量は男性9.3 mg女性7.7 mgであり、第6次改定栄養所要量をやや下回っている^{1, 2)}。このことから、亜鉛は、カルシウム、マグネシウム、銅とともに、日本人において不足が懸念されるミネラルとみなされている。ミネラルの吸収率は、ナトリウムなど一部の例外を除いて低い。亜鉛の吸収率は、一般には約30%といわれているが、亜鉛自身の化学形態、消化管内の共存物質、亜鉛の栄養状態によって変化するといわれている^{3, 4)}。本研究では、亜鉛の吸収に関する基礎的な情報を得る目的で、ラットにおいて様々な亜鉛の栄養状態を設定し、摂取する亜鉛量の違いによる吸収率の変化と体内分布の変化について検討した。

【実験方法】

実験動物と飼育条件

本研究では、2回の栄養試験(Ex. 1および2)を実施した。すなわち、Ex. 1では、体重約100~120 gの5週齢Wistar系雄ラット30匹を6匹ずつ5群に分け、1群にはTable 1に示す卵白アルブミンをタンパク質源とした亜鉛含量0.6 ppmの亜鉛欠乏基本飼料(オリエンタル酵母社製)、他の4群には基本飼料に亜鉛濃度が5.5, 10, 20, 40 ppmになるように硫酸亜鉛を添加した亜鉛添加飼料を投与し、自由摂取法で4週間飼育した。また、Ex. 2では、同様に5週齢Wistar系雄ラット30匹を5群に分け、1群には亜鉛欠乏基本飼料、他の4群には基本飼料に亜鉛濃度が10, 15, 20, 30 ppmになる

*所在地：京都市右京区太秦開日町10-1 (〒616-8555)

**所在地：吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

Table 1 Composition of basal zinc-deficient diet

Ingredient	%
Egg albumin	20
Dextrose	63.7
Corn oil	10
Cellulose powder	2
Mineral mix ^a	3.13
Vitamin mix ^b	1.17

^a Supplied per 100g of diet: 17.75g of NaCl, 34.16g of K₂HPO₄, 5.28g of MgSO₄, 7.96g of CaHPO₄, 31.79g of CaCO₃, 2.91g of Fe-Citrate, 0.084g of KI, 0.028g of MnSO₄·4H₂O, 0.032g of CuSO₄·5H₂O, 0.006g of CoCl₂·6H₂O.

^b Supplied per 100g of diet: 85,470 IU of Vitamin A, 10,680 IU of Vitamin D₃, 940mg of Vitamin E, 2.82mg of Vitamin K₃, 85.5mg of Vitamin B₁, 51.3mg of Vitamin B₂, 34.2mg of Vitamin B₆, 0.17mg of Vitamin B₁₂, 34.2mg of Biotin, 4.27mg of Folic acid, 136.8mg of Calcium pantothenate, 213.7mg of Nicotinic acid, 12.8g of Choline chloride with cellulose powder as a carrier.

ように硫酸亜鉛を添加した亜鉛添加飼料を投与し、4週間飼育した。いずれの実験でも、飼育期間終了後、肝臓、胸腺、脾臓、腎臓、脛骨、精巣、血清、体毛を採取し、測定に供した。また、飼育開始23～26日目の4日間にわたって糞を採取して亜鉛濃度を測定し、亜鉛の見かけの吸収率を求めた。飲料水としては蒸留水を与えた。

亜鉛の定量

体毛はアセトン-蒸留水-アセトンの順に洗浄した。すなわち、洗浄液をそれぞれ10 ml加え軽く振盪し、1時間放置後、回収し、風乾して試料とした。血清以外の試料は硝酸を用いて湿式灰化し原子吸光度計（フレイム）で測定した。血清は灰化せずに原子吸光度計（フレイムレス）で測定した。

酵素活性測定

血清アルカリフォスファターゼ（ALP）活性を測定した。測定にはフェニルリン酸基質法を用いるアルカリ性ホスファ K-テストワコー（和光純薬社製）を使用した⁵⁾。

【結果と考察】

亜鉛欠乏飼料投与群（欠乏群）のラットには、Ex. 1, 2ともに、著しい脱毛、皮膚障害という亜鉛欠乏の症状が顕著に認められた。また、欠乏群では、背骨の湾曲も認められた。これに対して、亜鉛添加飼料投与群では、添加した亜鉛の濃度とは無関係に、飼育中の様子や解剖所見において異常を認めなかった。

Fig. 1に飼育期間中のラットの体重変化、Table 2に飼育期間終了後の各群ラットの体重と組織重量を示した。欠乏群の成長と組織重量は、Ex. 1, 2ともに、他の群に比較して半分以下であり、著しい差が認められた。5.5 ppm亜鉛添加飼料投与群（以下5.5 ppm群）の成長は、他の亜鉛添加群と比較して有意に低く、組織重量も他の亜鉛添加群よりも低値を示す傾向があった。これに対して、10 ppmから40 ppmまでの亜鉛添加群間には、成長と組織重量に差を認めなかった。

Table 3に飼育期間中の飼料効率を示した。Ex. 1, 2ともに欠乏群では他の群に比較して飼料効率が著しく低かった。これは亜鉛欠乏によりタンパク質合成の阻害が生じたためと考えられる。またEx. 1において、5.5 ppm群は10 ppm以上の亜鉛を投与した群に比較して飼料効率が有意に低かった。これらのことから、5.5 ppm群では亜鉛がやや不足していると考えられる。

Table 4に血清ALP活性を示した。血清ALP活性は欠乏群で他の群に比較して有意に低かったが、亜鉛添加群間では差を認めなかった。ALP活性は亜鉛欠乏の指標になり得るという報告があることから^{6, 7)}、欠乏群のラットは酵素活性の上でも亜鉛欠乏状態であることが確認された。

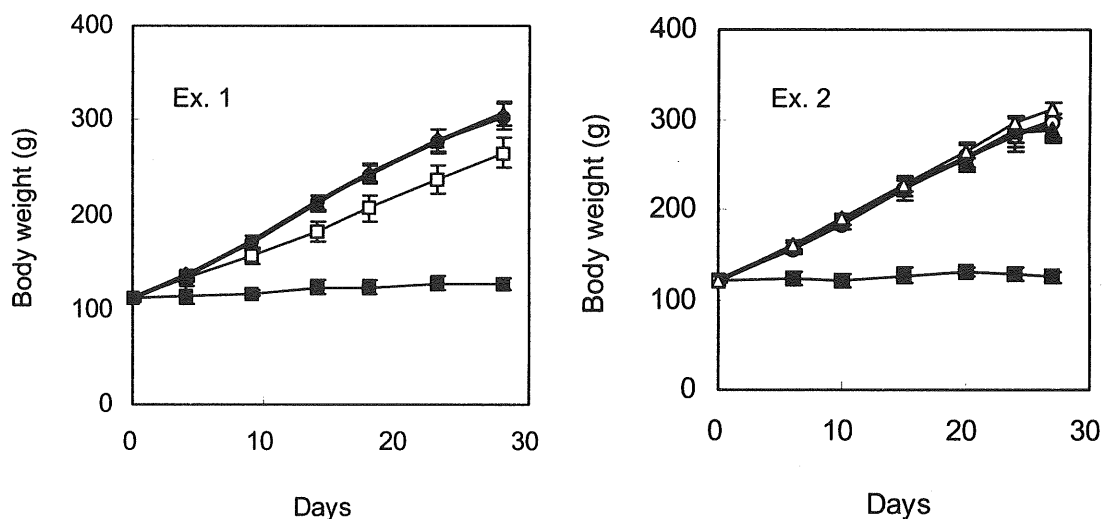


Fig. 1 Changes in body weight of rat fed experimental diets Markers and vertical bars represent means and standard deviation range, respectively.

■: Basal zinc deficient; □: 5.5ppm; ●: 10ppm; ○: 15ppm; ▲: 20ppm; △: 30ppm; ◆: 40ppm

Table 2-1 Body and tissue wet weights of rats fed experimental diets in Ex. 1

Tissues	Wet weight (g)				
	Basal (zinc-deficient)	10 ppm	15 ppm	20 ppm	30 ppm
Whole body	127 ± 7 ^a	271 ± 17 ^b	308 ± 18 ^c	312 ± 15 ^c	308 ± 15 ^c
Liver	3.51 ± 0.38 ^a	7.44 ± 0.67 ^b	8.17 ± 0.67 ^b	8.18 ± 0.39 ^b	8.19 ± 0.41 ^b
Thymus	0.17 ± 0.01 ^a	0.49 ± 0.09 ^b	0.65 ± 0.13 ^b	0.65 ± 0.21 ^b	0.62 ± 0.08 ^b
Spleen	0.31 ± 0.07 ^a	0.64 ± 0.12 ^b	0.80 ± 0.12 ^b	0.80 ± 0.11 ^b	0.67 ± 0.07 ^b
Kidney	1.08 ± 0.08 ^a	2.07 ± 0.10 ^b	2.27 ± 0.19 ^{bc}	2.27 ± 0.11 ^c	2.29 ± 0.10 ^c
Tibia	0.27 ± 0.04 ^a	0.42 ± 0.05 ^b	0.47 ± 0.03 ^b	0.47 ± 0.04 ^b	0.46 ± 0.02 ^b
Testis	1.41 ± 0.23 ^a	3.14 ± 0.11 ^b	3.28 ± 0.36 ^b	3.28 ± 0.17 ^b	3.07 ± 0.21 ^b
Fat	0.55 ± 0.15 ^a	3.21 ± 0.46 ^b	4.53 ± 0.57 ^b	4.53 ± 0.70 ^b	3.90 ± 0.53 ^b

Table 2-2 Body and tissue wet weights of rats fed experimental diets in Ex. 2

Tissues	Wet weight (g)				
	Basal (zinc-deficient)	10 ppm	15 ppm	20 ppm	30 ppm
Whole body	129 ± 7 ^a	311 ± 17 ^b	309 ± 22 ^b	312 ± 14 ^b	321 ± 9 ^b
Liver	3.69 ± 0.17 ^a	8.28 ± 0.62 ^b	8.23 ± 0.84 ^b	8.12 ± 0.62 ^b	8.87 ± 0.63 ^b
Thymus	0.17 ± 0.08 ^a	0.66 ± 0.12 ^b	0.60 ± 0.13 ^b	0.64 ± 0.12 ^b	0.70 ± 0.16 ^b
Spleen	0.32 ± 0.03 ^a	0.70 ± 0.12 ^b	0.68 ± 0.04 ^b	0.67 ± 0.11 ^b	0.72 ± 0.15 ^b
Kidney	1.08 ± 0.06 ^a	2.35 ± 0.11 ^b	2.37 ± 0.32 ^b	2.27 ± 0.23 ^c	2.46 ± 0.07 ^b
Tibia	0.25 ± 0.02 ^a	0.48 ± 0.05 ^b	0.48 ± 0.05 ^b	0.49 ± 0.05 ^b	0.48 ± 0.02 ^b
Testis	1.31 ± 0.25 ^a	3.26 ± 0.18 ^b	3.19 ± 0.24 ^b	3.24 ± 0.21 ^b	3.27 ± 0.18 ^b
Fat	0.52 ± 0.12 ^a	4.32 ± 1.27 ^b	4.30 ± 0.89 ^b	4.20 ± 1.00 ^b	4.44 ± 0.72 ^b

Values are means ± SD (n=6). In each experiment, values in the same row not sharing a common superscript differ significantly (p<0.05).

Table 3 Feed efficiency of each experimental group

Dietary zinc level	Feed efficiency (%)
Ex.1	
Basal (zinc-deficient)	5.1 ± 2.2 ^a
5.5 ppm	30.9 ± 3.2 ^b
10 ppm	35.3 ± 2.4 ^c
20 ppm	35.3 ± 2.1 ^c
40 ppm	34.9 ± 2.3 ^c
Ex. 2	
Basal (zinc-deficient)	2.3 ± 2.8 ^a
10 ppm	37.0 ± 3.9 ^b
15 ppm	36.8 ± 5.0 ^b
20 ppm	36.2 ± 2.6 ^b
30 ppm	37.0 ± 3.0 ^b

Feed efficiency was calculated by an equation as follows: [(body weight gain)/(total food intake)] × 100. Values are means ± SD (n=6). In each experiment, values not sharing a common superscript differ significantly (p<0.05).

Table 4 Effect of dietary zinc on serum alkaline phosphatase activity

Dietary zinc level	Activity (IU/ml)
Ex.1	
Basal (zinc-deficient)	41.6 ± 6.1 ^a
5.5 ppm	93.7 ± 23.2 ^b
10 ppm	133.6 ± 27.3 ^b
20 ppm	94.0 ± 16.9 ^b
40 ppm	114.3 ± 27.5 ^b
Ex. 2	
Basal (zinc-deficient)	49.3 ± 9.4 ^a
10 ppm	105.1 ± 16.0 ^b
15 ppm	120.3 ± 25.4 ^b
20 ppm	106.0 ± 14.1 ^b
30 ppm	118.4 ± 29.2 ^b

Values are means ± SD (n=6). In each experiment, values not sharing a common superscript differ significantly (p<0.05).

Fig. 2に各群ラットの亜鉛の見かけの吸収率を示した。

飼料中亜鉛濃度の増加に伴い、亜鉛の見かけの亜鉛吸収率は低下した。すなわち、Ex. 1において5.5, 10, 20, 40 ppm群の亜鉛の見かけの吸収率は、それぞれ92, 82, 43, 27%, Ex. 2において10, 15, 20, 30 ppm群の亜鉛の見かけの吸収率は、それぞれ85, 57, 49, 28%であった。以上のことから、成長期のラットでは食餌中亜鉛濃度が少なくとも30 ppm未満の場合、亜鉛摂取量の減少に対応して亜鉛の吸収率が上昇すると考えられる。一方、出納試験期間(4日間)における亜鉛の見かけの吸収量の合計は、Ex. 1における5.5 ppm群において0.50 mg, 40 ppm群において1.06 mgであったが、それ以外の亜鉛添加群ではEx. 1, 2ともに0.67から0.82 mgのほぼ一定の範囲にあった。すなわち、5.5 ppm群では亜鉛の摂取量自体が少ないため、亜鉛の吸収率が90%以上に高まっていますが、吸収量が少なく亜鉛不足が生じ、若干の成長遅延が生じたと考えられる。

Table 5に各群ラットの組織中亜鉛濃度をまとめた。

脛骨、精巣、血清では、亜鉛添加群において欠乏群よりも高い亜鉛濃度を認めたが、脛骨では15 ppm, 精巣と血清では10 ppm以上の亜鉛添加群で組織中濃度はほぼ一定となった。これらの組織の亜鉛濃度は、亜鉛の見かけの吸収量とよく対応しているといえる。とくに脛骨の亜鉛濃度は、亜鉛不足の5.5 ppm群と10 ppm以上の亜鉛添加群との差が

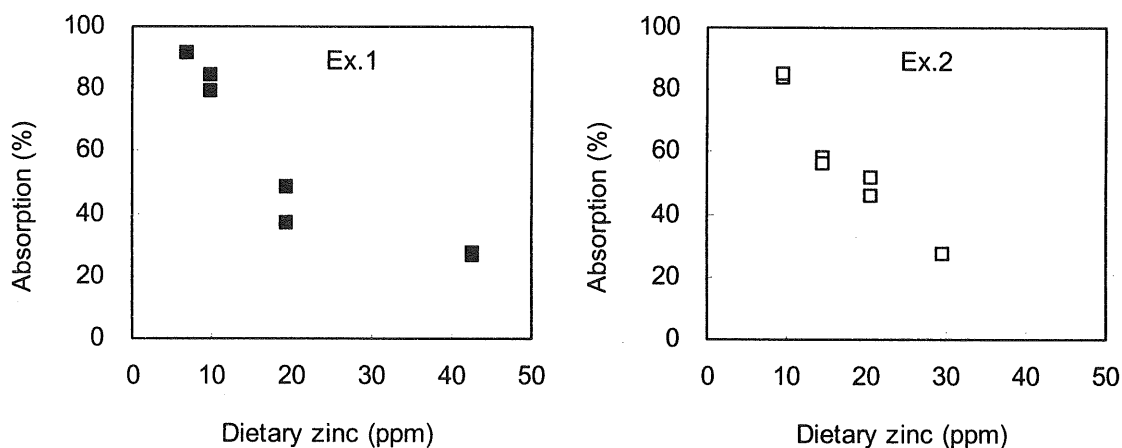


Fig. 2 Relation of dietary zinc level to apparent absorption of zinc

Table 5-1 Distribution of zinc in several tissues of rats in Ex. 1

Tissues	Tissue zinc concentration ($\mu\text{g/g}$ wet weight)				
	Basal (zinc-deficient)	5.5 ppm	10 ppm	20 ppm	40 ppm
Liver	30.9 \pm 2.1 ^a	31.8 \pm 2.1 ^a	34.9 \pm 3.7 ^a	32.1 \pm 3.8 ^a	30.8 \pm 3.3 ^a
Thymus	16.9 \pm 1.4 ^a	17.7 \pm 0.5 ^a	19.0 \pm 2.1 ^a	18.0 \pm 0.8 ^a	18.2 \pm 0.9 ^a
Spleen	22.4 \pm 1.0 ^b	21.6 \pm 0.5 ^b	19.3 \pm 0.4 ^a	19.3 \pm 0.6 ^a	19.5 \pm 0.7 ^a
Kidney	21.4 \pm 1.3 ^a	19.8 \pm 0.7 ^a	23.6 \pm 1.3 ^b	26.4 \pm 1.7 ^c	27.8 \pm 1.9 ^c
Tibia	45 \pm 1 ^a	54 \pm 4 ^a	103 \pm 5 ^b	143 \pm 10 ^c	143 \pm 8 ^c
Testis	18.6 \pm 3.0 ^a	23.2 \pm 1.1 ^b	24.6 \pm 0.7 ^{bc}	25.0 \pm 0.7 ^c	24.7 \pm 0.4 ^{bc}
Serum	0.94 \pm 0.06 ^a	1.15 \pm 0.10 ^{ab}	1.46 \pm 0.16 ^{bc}	1.62 \pm 0.23 ^c	1.59 \pm 0.16 ^c
Hair*	140 \pm 5 ^a	118 \pm 4 ^a	103 \pm 5 ^c	182 \pm 4 ^d	188 \pm 4 ^d

Table 5-2 Distribution of zinc in several tissues of rats in Ex. 2

Tissues	Tissue zinc concentration ($\mu\text{g/g}$ wet weight)				
	Basal (zinc-deficient)	10 ppm	15 ppm	20 ppm	30 ppm
Liver	27.5 \pm 1.5 ^a	39.4 \pm 1.2 ^b	37.2 \pm 1.9 ^b	38.7 \pm 3.8 ^b	39.4 \pm 2.0 ^b
Thymus	23.3 \pm 1.0 ^a	22.1 \pm 1.1 ^a	22.4 \pm 1.4 ^a	23.2 \pm 3.8 ^a	23.2 \pm 1.2 ^a
Spleen	21.8 \pm 0.8 ^b	20.4 \pm 0.5 ^a	20.2 \pm 0.7 ^a	20.6 \pm 0.6 ^{ab}	20.3 \pm 0.6 ^a
Kidney	22.6 \pm 0.4 ^b	25.2 \pm 0.5 ^b	26.5 \pm 1.2 ^{bc}	27.1 \pm 1.7 ^{bc}	2.73 \pm 0.8 ^c
Tibia	51 \pm 3 ^a	116 \pm 8 ^b	140 \pm 7 ^c	153 \pm 7 ^c	148 \pm 9 ^c
Testis	19.5 \pm 2.5 ^a	25.2 \pm 0.6 ^b	24.7 \pm 0.5 ^b	24.2 \pm 1.0 ^b	25.2 \pm 0.7 ^b
Serum	0.77 \pm 0.09 ^a	1.50 \pm 0.12 ^b	1.46 \pm 0.14 ^b	1.54 \pm 0.13 ^b	1.57 \pm 0.08 ^b
Hair*	142 \pm 6 ^a	165 \pm 10 ^b	177 \pm 4 ^{bc}	182 \pm 7 ^c	181 \pm 6 ^c

Values are means \pm SD (n=6). In each experiment, values in the same row not sharing a common superscript differ significantly (p<0.05).

* Unit of hair zinc $\mu\text{g/g}$ dry weight.

顕著であり、亜鉛吸収量をもっとも強く反映していた。体毛と腎臓の亜鉛濃度も、10 ppm以上の亜鉛添加群において欠乏群よりも有意に高いほぼ一定の値を示したが、5.5 ppm群では欠乏群よりもむしろ減少する傾向を示した。体毛に蓄積した亜鉛は再利用できないため⁸⁾、ほとんど成長しなかった欠乏群では飼育開始時の濃度がほぼ維持されるのに対して、5.5 ppm群では亜鉛の吸収量が少ないために、成長による組織重量の増大によって組織中亜鉛の希釈が生じたと考えられる。また、肝臓、胸腺においては、Ex. 1, 2ともに、各群間に有意な差を認めなかった。一方、脾臓の亜鉛濃度は亜鉛添加群において欠乏群よりも低値であり、10 ppm以上の亜鉛添加群においてほぼ一定となった。これらが、

成長に伴う組織重量の増大による組織中亜鉛の希釈によって生じた見かけ上の現象なのか、それとも何らかの生理的意味のある現象なのかは不明である。

亜鉛の吸収率、体重、組織亜鉛濃度から5.5から10 ppmの間にラットにおける亜鉛の最小必要量があると考えられる。また摂取した亜鉛量は各組織の亜鉛濃度に異なる影響を与えることが分かった。よって、一般に言われている亜鉛の吸収率30%とは亜鉛を十分に摂取した時のものであると考えられる。

本研究では亜鉛投与量は通常の動物用固形飼料(約50 ppm)以下の亜鉛濃度で行った。今後、亜鉛摂取量がさらに多くなった時、吸収率、吸収量はどのように変化するかを引き続き検討する必要がある。また様々な亜鉛において、その形態の違いによる吸収率や体内分布の違いを検討するために亜鉛の吸収率が50%程度になる投与量で検討する必要があると考えられる。

【文 献】

- 1) 平成14年国民栄養調査結果の概要(2003), 厚生労働省.
- 2) 第6次改定日本人の栄養所要量 食事摂取基準(1999), 厚生労働省.
- 3) King JC and Turnlund JR (1989) Human zinc requirements. Zinc in Human Biology (Mills CF ed.), Springer-Verlag, Berlin: pp.335-350.
- 4) Solomons NW and Cousins RJ (1984) Absorption and Malabsorption of Mineral Nutrients (Solomons NW and Rosenberg IH eds.) Alan R. Liss, Inc., New York: pp.125-197.
- 5) Kind PRN and King EJ (1954) Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine, J. Clin. Path., 7: 322-326.
- 6) Kirchgessner M and Roth HP (1980) Zinc in the Environment (Nriagu JO ed.), Part 2, Wiley, New York: pp.71.
- 7) Rothbaum RJ, Maur PR and Farrell MK (1982) Am. J. Clin. Nutr. 35: 595.
- 8) McKenney JR, McClennan RO and Bustad LK (1962) Health Phys. 8: 41.